

肾阳虚水肿证代谢组学的研究

周 宁¹, 郑晓珂^{1*}, 李 凯^{1,2}, 牛 艳¹, 李星灿¹, 匡海学³, 冯卫生^{1,2*}
(1. 河南中医药大学, 河南 郑州 450046; 2. 呼吸疾病诊疗与新药研发河南省协同创新中心, 河南 郑州 450046; 3. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要: **目的** 揭示肾阳虚水肿证的代谢组学。**方法** 采用“阿霉素+氢化可的松”复合造模法建立肾阳虚水肿模型后, UPLC-Q/TOF-MS 法检测正常组、肾阳虚水肿模型组、阳性药组大鼠尿液代谢物, 在主成分分析和正交偏最小二乘判别分析的基础上, 筛选出与肾阳虚水肿模型相关的生物标志物。然后, 通过 MeV 软件对标志物水平进行热度图绘制, 结合 MBRole、KEGG 等在线数据库进行通路富集分析和代谢网络构建。**结果** 共鉴定了 40 个生物标志物, 有 3 条显著相关的代谢通路(苯丙氨酸代谢、色氨酸代谢、嘧啶代谢)。在肾阴虚、阳虚水肿证共有标志物中, 苯乙酰甘氨酸等 7 种代谢物变化趋势相同, 4, 6-二羟基喹啉等 10 种代谢物变化趋势相反。**结论** 肾阳虚水肿模型大鼠体内多种代谢紊乱与其肾脏功能损伤、水肿发生、耗竭症状、免疫功能紊乱密切相关, 而肾阴虚、阳虚水肿模型在动物形态、免疫功能紊乱中的差异可能与色氨酸、嘧啶、组氨酸代谢紊乱有关。

关键词: 肾阳虚水肿证; 代谢组学; 生物标志物; UPLC-Q/TOF-MS

中图分类号: R966 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2019)07-1532-06

doi: 10. 3969/j. issn. 1001-1528. 2019. 07. 011

Metabolomic study of edema due to Kidney Yang Deficiency

ZHOU Ning¹, ZHENG Xiao-ke^{1*}, LI Kai^{1,2}, NIU Yan¹, LI Xing-can¹, KUANG Hai-xue³, FENG Wei-sheng^{1,2*}

(1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. Henan Provincial Collaborative Innovation Center for Respiratory Disease Diagnosis and Treatment & New Drug Research, Zhengzhou 450046, China; 3. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

KEY WORDS: edema due to Kidney Yang Deficiency; metabolomics; biomarkers; UPLC-Q/TOF-MS

《素问·调经论》云:“肾者, 水脏, 主津液”^[1], 肾接纳津液后分清与浊, 清者蒸腾向上达于肺而濡养全身, 浊者气化向下注入膀胱而排出体外, “肾主水”异常会导致机体水液代谢失调, 进而形成水肿^[2]。在正常生理状态下, 机体之肾阴与肾阳相对平衡, 故无论是肾阴还是肾阳亏竭, 均会导致“肾主水”之功能异常, 从而引起机体水液代谢障碍, 并诱发水肿, 肾阴亏虚则阴虚火旺、代谢亢进, 而肾阳亏虚则阳气不足、代谢滞缓。

课题组前期已经通过“阿霉素+甲状腺片”的复合造模法建立肾阴虚水肿模型^[3], 并进行相关代谢组学研究, 得到其代谢轮廓特征、相关生物标

志物、受干扰的代谢通路和网络^[4]; 本实验拟采用“阿霉素+氢化可的松”复合造模法建立肾阳虚水肿模型^[5], 以期从代谢组学的角度初步揭示其发病机理, 并通过比较病理变化、代谢异常、共有标志物水平在肾阴虚、阳虚水肿模型中变化趋势的异同, 筛选出可用于区分 2 种证型的潜在生物标志物, 从而为中医辨证研究提供新思路。

1 材料

1.1 动物 SD 大鼠, 体质量 180~220 g, 雄性, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 许可证号 SCXK(京)2012-0001, 均饲养于(20±2)℃、相对湿度(60±10)%的清洁级动物实验室内, 昼

收稿日期: 2018-09-26
基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973 计划)(2013CB531802); 河南省高等学校重点科研项目(19A360001)
作者简介: 周 宁(1984—), 女, 博士, 讲师, 从事中药药效物质基础研究。Tel: (0371) 65962746, E-mail: zhoun0813@163.com
*通信作者: 郑晓珂(1961—), 女, 博士, 教授, 从事中药药效物质基础研究。Tel: (0371) 60190296, E-mail: zhengxk.2006@163.com
冯卫生(1960—), 男, 博士, 教授, 从事中药药效物质基础研究。Tel: (0371) 60190296, E-mail: fwsh@hactcm.edu.cn

夜交替，自由摄食饮水。

1.2 试药 阿霉素注射粉末（山西普德药业股份有限公司，批号 02160103）；氢化可的松注射液（上海现代哈森药业股份有限公司，批号 1502132）；桂附地黄丸（北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂，批号 15050630）。0.9%生理盐水（河南科伦药业有限责任公司，批号 H20003438）；乙腈为色谱纯（美国 Fisher Chemical 公司）；甲酸为质谱纯（美国 Anaqua Chemicals Supply 公司）。

1.3 仪器 maXis HD 四级杆-飞行时间质谱（德国 Bruker 公司）；Dionex UltiMate 3000 超高效液相色谱仪（美国 Thermo Scientific 公司）；iMark 酶标仪（美国 Bio-Rad 格式）。

2 方法

2.1 分组与造模 30 只大鼠适应性喂养 1 周后，随机分成正常组（8 只）和造模组（22 只），其中造模组大鼠第 1 天尾静脉注射 4 mg/kg 阿霉素，第 8 天尾静脉注射 3.5 mg/kg 阿霉素，同时开始腹腔注射氢化可的松，连续 15 d，造模结束后将成模大鼠分成肾阳虚水肿模型组和阳性药组。正常组、模型组大鼠给予蒸馏水（1 mL/100 g），而阳性药组大鼠给予桂附地黄丸混悬液（4.38 mg/kg）。

2.2 样品采集与处理 代谢笼收集各组大鼠 24 h 尿液，10%水合氯醛麻醉后腹主动脉取血，分别收集血清、血浆，置于-80℃超低温冰箱中冷冻保存。进样前，尿液在冰水浴下解冻，12 000 r/min 离心 10 min，将 1 mL 上清液与 3 倍量乙腈混合后涡旋 60 s，12 000 r/min 再离心 10 min，吸取适量上清液于进样瓶中，进行 UPLC-Q/TOF-MS 分析。

2.3 一般状况观察与生化指标检测 观察大鼠的身体状态和一般行为特征，同时检测各组大鼠尿蛋白及血中环磷酸腺苷（cAMP）、环磷酸鸟苷（cGMP）、肌酐、尿素氮、白蛋白水平，进而对肾阳虚水肿模型的建立进行评价。

2.4 液质分析条件

2.4.1 色谱条件 色谱分离采用 Acclaim™ RSLC 120 C₁₈ 色谱柱（2.1 mm×100 mm，2.2 μm）；进样量 2 μL；体积流量 0.3 mL/min；柱温 40℃；流动相 0.1%甲酸-水（A）和乙腈（B），梯度洗脱（0~1 min，2~10% B；1~9 min，10~20% B；9~16 min，20~30% B；16~20 min，30~98% B）。

2.4.2 质谱条件 电喷雾离子化源（ESI），正、负离子源模式下毛细管电压分别为 3 500、

3 200 V；质量扫描范围 *m/z* 50~1 500；雾化气压、干燥气温度和干燥气体积流量分别为 200 kPa、230℃和 8 L/h。

2.5 代谢轮廓分析 利用 Q/TOF-MS 配套软件 Data Analysis 2.1 对原始谱图数据进行滤噪、校正和峰对齐，将处理后的数据在 Profile Analysis 软件中打开，进行归一化处理和 bucket 列表生成，再将 bucket 列表导入 SIMCA-P 13.0 软件进行主成分分析（PCA），所得 PCA 得分散点图可直观反映各实验组大鼠之间的代谢轮廓差异^[6]。

2.6 生物标志物筛选与鉴定 在主成分分析基础上进行正交偏最小二乘判别分析（OPLS-DA），生成 OPLS-DA 得分散点图、S-plot 散点图、VIP 列表，利用 *t* 检验（*P*<0.05）和 VIP 值（VIP>1.5）对潜在生物标志物进行初步筛选，结合 Metlin、HMDB、KEGG 等在线数据库作进一步地鉴别。最后，通过 MeV 软件绘制生物标志物水平量化处理结果的热度图。

2.7 代谢通路富集分析与网络构建 将潜在生物标志物导入 MBRole 数据库（<http://csbg.cnbcsic.es/mbrole2>）进行代谢通路富集分析，获得显著受到干扰的代谢通路，再结合 KEGG（<http://www.kegg.jp/>）等在线数据库的相关信息构建肾阳虚水肿模型受干扰的代谢网络。

3 结果与讨论

3.1 一般状况与生化指标 模型组大鼠出现脱毛、毛色无光、牙齿脱落、不爱动、怕冷、便溏等肾阳虚症状，而给予阳性药后上述症状均得到显著改善^[7]。血中 cAMP、cGMP 水平及比值变化是区分肾阴虚、阳虚证的关键指标^[3]，表 1 显示，与正常组比较，肾阳虚水肿模型组大鼠 cAMP 水平显著降低（*P*<0.01）、cGMP 水平显著升高（*P*<0.05），两者比值降低，而给予阳性药后比值显著升高，表明造模成功^[8-9]。血肌酐和尿素氮能客观地反映肾小球滤过率，是临床上评估肾功能损伤的常规指标^[10]，表 1 显示，肾阳虚水肿模型组大鼠血肌酐、尿素氮、尿蛋白水平较正常组均显著升高（*P*<0.05，*P*<0.01），同时出现低蛋白血症，而给予阳性药后各项指标均得到不同程度的改善，表明大鼠肾功能受损并伴有水肿症状。

3.2 代谢轮廓 对尿液分析条件进行优化后，得到具有最优分离度和峰形的基峰色谱图，见图 1。

图 2A 显示，正常组、肾阳虚水肿模型组样品在 PCA 得分散点图中各自聚为一类，2 组分离趋

表 1 3 组生化指标比较 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Tab. 1 Comparison of biochemical indices among the three groups ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	cAMP/ (nmol·L ⁻¹)	cGMP/ (nmol·L ⁻¹)	尿蛋白/ (mg·24 h ⁻¹)	白蛋白/ (g·L ⁻¹)	肌酐/ (μmol·L ⁻¹)	尿素氮/ (mmol·L ⁻¹)
正常组	35.40±1.01	10.72±0.74	6.20±1.88	32.81±1.82	29.17±5.98	5.78±0.42
肾阳虚水肿模型组	27.84±2.41**	11.84±0.89*	212.21±91.00**	23.20±0.66**	50.77±4.08**	7.20±0.92*
阳性药组	28.32±2.63	9.45±0.87 ^{##}	175.07±53.29	23.58±0.91	34.05±5.96 ^{##}	5.44±0.69 ^{##}

注:与正常组比较,**P*<0.05,***P*<0.01;与肾阳虚水肿模型组比较,^{##}*P*<0.01

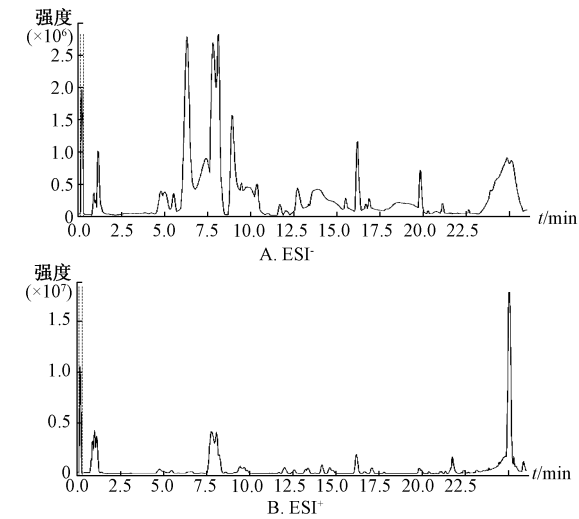
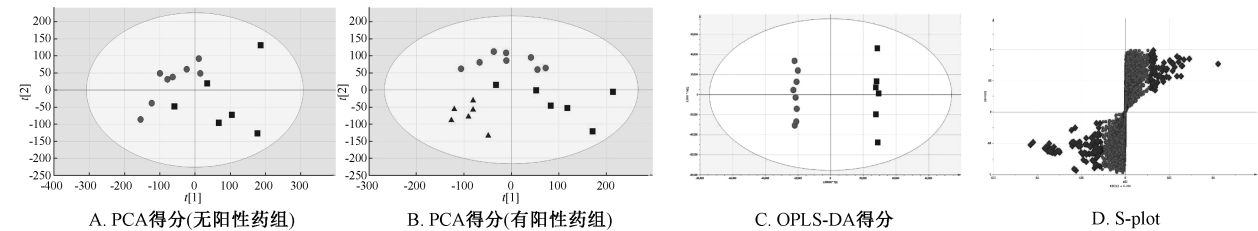


图 1 尿液基峰色谱图

Fig. 1 Base peak chromatograms of urine



注:圆圈为正常组,正方形为肾阳虚水肿模型组,三角形为阳性药组

图 2 样品散点图

Fig. 2 Scatter plots for samples

表 2 肾阳虚水肿模型相关生物标志物

Tab. 2 Relevant biomarkers for edema model of Kidney Yang Deficiency

离子源	序号	metabolites	代谢物	化学式	相对分子质量
ESI ⁻	1	indoxyl sulfate	硫酸吲哚酚	C ₈ H ₇ NO ₄ S	213.009 6
	2	<i>p</i> -cresol sulfate	硫酸对甲酚	C ₇ H ₈ O ₄ S	188.014 3
	3	phenylacetylglycine	苯乙酰甘氨酸	C ₁₀ H ₁₁ NO ₃	193.073 9
	4	4-pyridoxic acid	4-吡哆酸	C ₈ H ₉ NO ₄	183.053 2
	5	2-oxobutanoate	2-氧桥丁酸	C ₄ H ₆ O ₃	102.031 7
	6	<i>N</i> -acetylvaline	<i>N</i> -乙酰缬氨酸	C ₇ H ₁₃ NO ₃	159.089 5
	7	uracil	尿嘧啶	C ₄ H ₄ N ₂ O ₂	112.027 3
	8	3-dehydroquinate	3-脱氢奎尼酸	C ₇ H ₁₀ O ₆	190.047 7
	9	2-amino-3-phosphonopropionic acid	2-氨基-3-磷酸基丙酸	C ₃ H ₈ NO ₅ P	169.014 0
	10	acetaldehyde	乙醛	C ₂ H ₄ O	44.026 2
	11	2-oxoglutarate	α-酮戊二酸	C ₅ H ₄ O ₅	144.005 9
	12	phenylacetic acid	苯乙酸	C ₈ H ₈ O ₂	136.052 4
	13	3-hydroxyvalproic acid	3-羟基丙戊酸	C ₈ H ₁₆ O ₃	160.109 9
	14	uridine	尿苷	C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₆	244.069 5
	15	5-hydroxyindoleacetaldehyde	5-羟基吲哚乙醛	C ₁₀ H ₉ NO ₂	175.063 3
	16	aniline	苯胺	C ₆ H ₇ N	93.057 8
	17	isovaleric acid	异戊酸	C ₅ H ₁₀ O ₂	102.068 1

续表 2

离子源	序号	metabolites	代谢物	化学式	相对分子质量
ESI ⁺	18	orotic acid	乳清酸	C ₅ H ₄ N ₂ O ₄	156.017 1
	19	2,5-dioxopentanoate	2,5-二氧戊酸	C ₅ H ₆ O ₄	130.026 6
	20	3-isopropylmalate	3-异丙基苹果酸	C ₇ H ₁₂ O ₅	176.068 5
	21	cyclohexanecarboxylic acid	环己烷羧酸	C ₇ H ₁₂ O ₂	128.083 7
	1	cyperotundone	香附酮	C ₁₆ H ₂₄	216.187 8
	2	3-ureidopropionate	3-脲基丙酸	C ₄ H ₈ N ₂ O ₃	132.053 5
	3	imidazoleacetic acid	咪唑乙酸	C ₅ H ₆ N ₂ O ₂	126.042 9
	4	1-methylhistamine	1-甲基组胺	C ₆ H ₁₁ N ₃	125.095 3
	5	(2R)-2-hydroxy-2-methylbutanenitrile	(2R)-2-羟基-2-甲基丁腈	C ₅ H ₉ NO	99.068 4
	6	5-hydroxykynurenamine	5-羟基犬尿胺	C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₂	180.089 9
	7	creatinine	肌酐	C ₄ H ₇ N ₃ O	113.058 9
	8	homocitric acid	高柠檬酸	C ₇ H ₁₀ O ₇	206.042 7
	9	4,6-dihydroxyquinoline	4,6-二羟基喹啉	C ₉ H ₇ NO ₂	161.047 7
	10	progesterone	孕酮	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	314.224 6
	11	4-hydroxybenzaldehyde	4-羟基苯甲醛	C ₇ H ₆ O ₂	122.036 8
	12	3-methyldioxyindole	3-甲基二羟基吲哚	C ₉ H ₉ NO ₂	163.063 3
	13	2-phenylacetamide	2-苯乙酰胺	C ₈ H ₉ NO	135.068 4
	14	kynurenic acid	犬尿喹啉酸	C ₁₀ H ₇ NO ₃	189.042 6
	15	3-methylcrotonylglycine	3-甲基巴豆酰甘氨酸	C ₇ H ₁₁ NO ₃	157.073 9
	16	linoleic acid	亚油酸	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280.240 2
	17	indole-3-carboxaldehyde	吲哚-3-甲醛	C ₉ H ₇ NO	145.052 8
	18	3-methylguanine	3-甲基鸟嘌呤	C ₆ H ₇ N ₅ O	165.065 1
	19	N-methylnicotinamide	N-甲基烟酰胺	C ₇ H ₈ N ₂ O	136.063 7

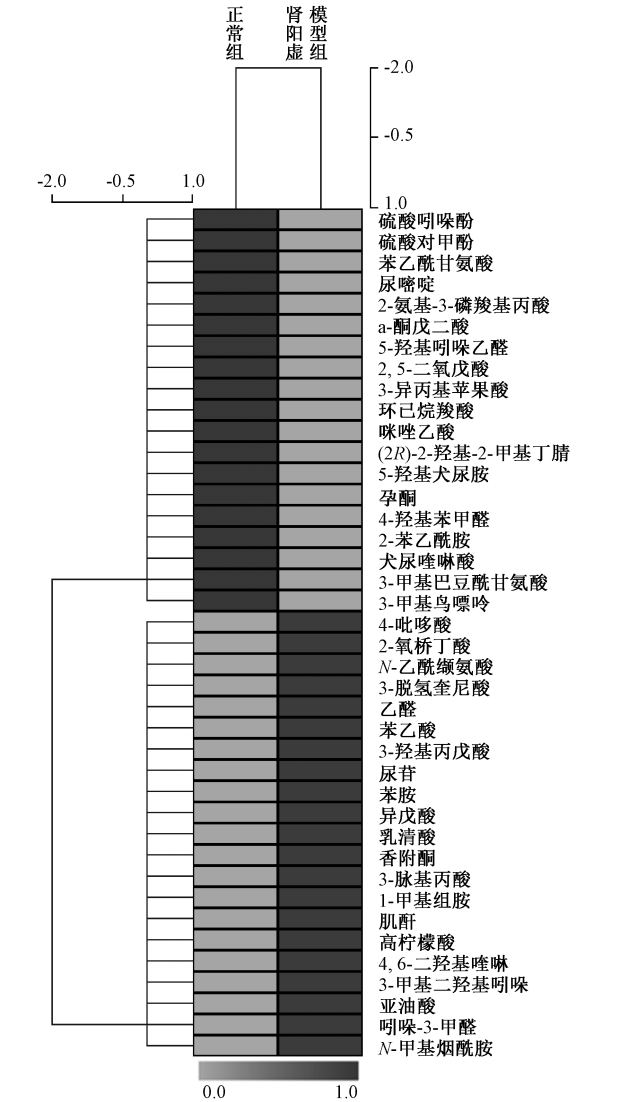


图 3 生物标志物热度图

Fig. 3 Heatmap for biomarkers

析,结果见表 3,可知大鼠体内受到显著干扰的代谢通路有苯丙氨酸代谢、色氨酸代谢、嘧啶代谢。

表 3 肾阳虚水肿模型相关代谢通路

Tab. 3 Relevant metabolic pathways for edema model of Kidney Yang Deficiency

代谢途径	P 值	相关代谢物
苯丙氨酸代谢	1.80×10 ⁻⁴	苯乙酰甘氨酸、乙醛、苯乙酸、2-苯乙酰胺
色氨酸代谢	1.33×10 ⁻⁴	5-羟基吲哚乙醛、5-羟基犬尿胺、4,6-二羟基喹啉、3-甲基二氧化吲哚、犬尿喹啉酸
嘧啶代谢	4.73×10 ⁻⁴	尿喹啉、尿苷、乳清酸、3-脲基丙酸

3.5 肾阳虚水肿模型相关代谢网络 在代谢通路富集分析的基础上,结合 KEGG 在线数据库中色氨酸代谢、苯丙氨酸代谢、丙酮酸代谢、组氨酸代谢、嘧啶代谢等相关通路信息,构建肾阳虚水肿模型大鼠体内受干扰的代谢网络,见图 4,可知受干扰的苯丙氨酸代谢、色氨酸代谢、嘧啶代谢、组氨酸代谢之间通过丙酮酸代谢相互关联,且这些代谢紊乱与肾阳虚水肿证的病理变化密切相关。

3.5.1 苯丙氨酸代谢紊乱与肾脏毒素蓄积 图 3~4 显示,肾阳虚水肿模型大鼠尿液中乙醛、苯乙酸水平上调,苯乙酰甘氨酸、硫酸对甲酚水平下调,表明大鼠体内有苯丙氨酸代谢紊乱;大鼠尿液中硫酸对甲酚、硫酸吲哚酚水平下调,表明两者在大鼠体内存在蓄积。硫酸对甲酚和硫酸吲哚酚均为氨基酸的肠道微生物代谢产物,并具有肾脏毒性,可引起肾脏损伤,加重肾脏功能不全^[4,11],可知大鼠体内苯丙氨酸代谢紊乱与其肾脏毒素蓄积、肾功能损伤、水肿发生密切相关。

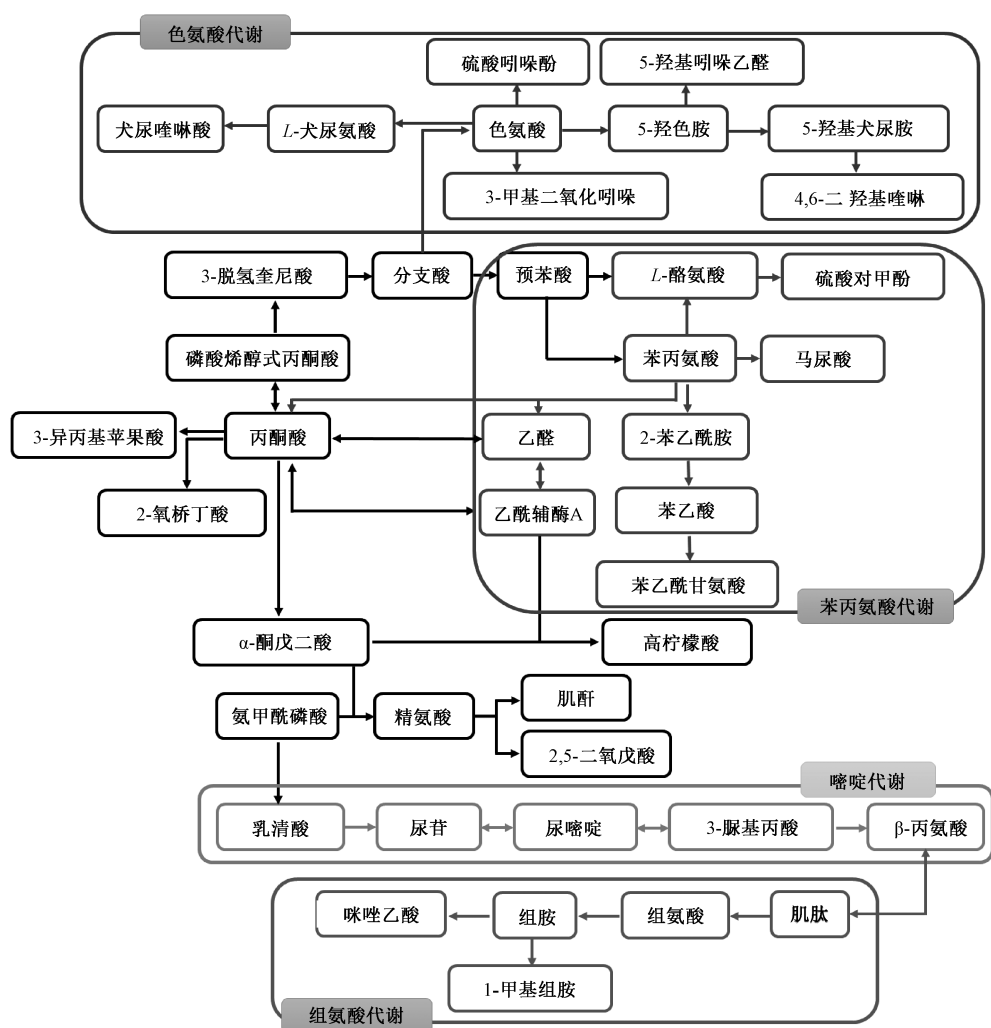


图 4 肾阳虚水肿模型受干扰代谢网络

Fig. 4 Disturbed metabolic network of edema model of Kidney Yang Deficiency

3.5.2 色氨酸代谢紊乱 色氨酸代谢在行为、情绪、生长、免疫应答的调节过程中均发挥关键作用^[12]，其主要途径为犬尿氨酸途径和 5-羟色胺途径^[4]。图 4 显示，肾阳虚水肿模型大鼠体内色氨酸代谢异常主要集中在 5-羟色胺途径，其 2 个下游代谢物 5-羟基吲哚乙醛和 5-羟基犬尿胺在尿液中的水平均下调，表明其水平呈上调变化。5-羟色胺可参与调节行为、睡眠、饮食、体温等多种生理及代谢机能^[13]，当其水平较高时容易出现反射亢进、发汗、恶寒、振颤、腹泻、协调运动障碍等症状^[14]，由此推测，大鼠出现的一系列耗竭现象（如活动减少、体重下降、蜷缩、拱背、畏寒、腹泻等）可能与其水平上调有密切关联。

3.5.3 组氨酸、精氨酸和嘧啶代谢紊乱 图 4 显示，肾阳虚水肿模型大鼠体内显著受到干扰的代谢通路还有组氨酸代谢、精氨酸代谢、嘧啶代谢，三者均与机体的免疫调节密切相关^[4,15]，故

其发生紊乱时势必引发肾阳虚水肿模型大鼠免疫功能下降。

3.6 肾阳虚、阴虚水肿模型比较 课题组前期已经通过“阿霉素+甲状腺片”复合造模法建立肾阴虚水肿模型，并进行相关代谢组学研究，得到肾阴虚水肿模型的代谢轮廓特征、相关生物标志物、受干扰的代谢通路和代谢网络^[4]。表 4 显示，苯乙酰甘氨酸、硫酸对甲酚、乙醛、苯乙酸、硫酸吲哚酚、α-酮戊二酸、肌酐在 2 种模型中的变化趋势相同，主要代谢通路为与肾脏功能损伤、水肿发生密切相关的苯丙氨酸代谢；4，6-二羟基喹啉、3-甲基二氧吲哚、5-羟基吲哚乙醛、5-羟基犬尿胺、尿嘧啶、尿苷、乳清酸、3-脲基丙酸、1-甲基组胺、咪唑乙酸在 2 种模型中的变化趋势相反，主要代谢通路为与肾阴虚、阳虚证密切相关的色氨酸代谢，以及与免疫功能紊乱密切相关的组氨酸代谢和嘧啶代谢。

表 4 肾阴虚、阳虚水肿模型共有生物标志物

Tab. 4 Shared biomarkers for edema models of Kidney Yin Deficiency and Kidney Yang Deficiency					
序号	共有生物标志物	代谢通路	肾阴虚水肿模型组	肾阳虚水肿模型组	2 种模型中的变化趋势
1	苯乙酰甘氨酸	苯丙氨酸代谢	↓	↓	相同
2	硫酸对甲酚	苯丙氨酸代谢	↓	↓	相同
3	乙醛	苯丙氨酸代谢	↑	↑	相同
4	苯乙酸	苯丙氨酸代谢	↑	↑	相同
5	硫酸吡啶酚	色氨酸代谢	↓	↓	相同
6	α-酮戊二酸	柠檬酸循环	↓	↓	相同
7	肌酐	精氨酸和脯氨酸代谢	↑	↑	相同
8	4,6-二羟基喹啉	色氨酸代谢	↓	↑	相反
9	3-甲基二氧化吡啶	色氨酸代谢	↓	↑	相反
10	5-羟基吡啶乙醛	色氨酸代谢	↑	↓	相反
11	5-羟基犬尿胺	色氨酸代谢	↑	↓	相反
12	尿嘧啶	嘧啶代谢	↑	↓	相反
13	尿苷	嘧啶代谢	↓	↑	相反
14	乳清酸	嘧啶代谢	↓	↑	相反
15	3-脲基丙酸	嘧啶代谢	↓	↑	相反
16	1-甲基组胺	组氨酸代谢	↓	↑	相反
17	咪唑乙酸	组氨酸代谢	↑	↓	相反

注：↑、↓ 分别为代谢物与正常组比较在 2 种模型中的上调、下调

4 结论

肾阳虚水肿模型大鼠体内苯丙氨酸代谢、色氨酸代谢、组氨酸代谢、精氨酸代谢、嘧啶代谢等多条通路受到明显干扰，与大鼠肾脏功能损伤、水肿发生、耗竭症状、免疫功能紊乱均密切相关。肾阴虚、阳虚水肿模型中存在的肾脏功能损伤、水肿情况与 2 种模型中类似的苯丙氨酸代谢紊乱有关；两者之间迥异的动物状态（肾阴虚动物之躁动、易惊、进食减少，肾阳虚动物之耗竭）和免疫功能紊乱情况则主要与模型中波动趋势相反的色氨酸、嘧啶、组氨酸代谢紊乱有关，初步确定 4，6-二羟基喹啉、3-甲基二氧化吡啶、5-羟基吡啶乙醛、5-羟基犬尿胺、尿嘧啶、尿苷、乳清酸、3-脲基丙酸、1-甲基组胺、咪唑乙酸等 10 种代谢物可作为区分肾阴虚、阳虚证的潜在生物标志物。然而，本研究结果仅是基于肾阴虚、阳虚水肿模型的比较而初步得出，还有待于后期补充完善。

参考文献：

[1] 何文彬, 谭一松. 素问[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1998; 200.

[2] 叶海丰, 莫芳芳, 张国霞. “肾主水” 理论及临床研究进展[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(7): 1842-1843.

[3] 张子怡, 陈宝军, 张英杰, 等. 肾阳虚、肾阴虚证大鼠模型的建立与稳定性观察[J]. 福建中医药, 2015, 46(1): 51-54.

[4] 周宁, 郑晓珂, 王秋红, 等. 葶苈子对肾阴虚水肿模型干

预作用的代谢组学研究[J]. 中药材, 2017, 40(9): 2166-2171.

[5] 戴冰, 张嘉妮, 杨梦琳, 等. 氢化可的松致肾虚证小鼠模型的建立及相关指标的评价[J]. 中国实验动物学报, 2017, 25(1): 70-73.

[6] 仰贤莉, 李光伟, 康璐, 等. 扶正化瘀方抗大鼠肝纤维化疗效的代谢组学研究[J]. 中成药, 2016, 38(11): 2342-2346.

[7] 彭蕴茹, 沈明勤, 罗宇慧, 等. 金匮肾气丸防治小鼠肾阳虚的实验研究[J]. 中成药, 2004, 26(5): 395-397.

[8] 肖雅, 经媛, 陈洁瑜, 等. 桂附地黄丸干预阳虚体质的血浆代谢组学[J]. 南方医科大学学报, 2016, 36(11): 1489-1495.

[9] 陈嵘, 秦竹, 吴施国, 等. 桂附地黄丸对肾阳虚抑郁症大鼠行为学改变的影响[J]. 新中医, 2013, 45(4): 165-168.

[10] 付玉华, 营建国. 血尿素氮、血肌酐与血清胱抑素 C 联合检测对肾功能损害程度的诊断价值研究[J]. 中国疗养医学, 2017, 26(5): 466-468.

[11] 周宁, 郑晓珂, 王秋红, 等. 桑白皮对肾源性水肿大鼠的代谢组学研究[J]. 中成药, 2018, 40(4): 788-795.

[12] 于冲, 马梦彪, 夏海华, 等. 色氨酸代谢和应用前景展望[J]. 黑龙江科学, 2014, 5(5): 36-37.

[13] Halford J C, Harrold J A, Boyland E J, et al. Serotonergic drugs: effects on appetite expression and use for the treatment of obesity[J]. *Drugs*, 2007, 67(1): 27-55.

[14] 刘雨桃. 5-羟色胺综合征[J]. 日本医学介绍, 2001, 22(7): 321-322.

[15] 孙红暖, 杨海明, 王志跃, 等. 精氨酸对动物的营养生理及免疫作用[J]. 动物营养学报, 2014, 26(1): 54-62.